



CIRUGÍA ESPAÑOLA

www.elsevier.es/cirugia


Revisión de conjunto

Microorganismos y cáncer: evidencias científicas y nuevas hipótesis

Encarna Velázquez^a, Álvaro Peix^b y Alberto Gómez-Alonso^{c,*}^a Departamento de Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca, Salamanca, España^b IRNASA-CSIC, Salamanca, España^c Departamento de Cirugía, Universidad de Salamanca, Salamanca, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 14 de enero de 2010

Aceptado el 3 de agosto de 2010

On-line el 2 de febrero de 2011

Palabras clave:

Cáncer

Microorganismos

Hombre

Keywords:

Cancer

Microorganisms

Humans

RESUMEN

La implicación de los microorganismos en el cáncer humano se conoce desde hace más de un siglo y diferentes tipos de parásitos, bacterias y virus se han relacionado con procesos oncogénicos. Dentro de las bacterias, la primera reconocida como carcinogénica fue *Helicobacter pylori*, que causa cáncer gástrico y podría estar relacionada con cánceres extragástricos en el hombre. *Helicobacter hepaticus* se ha relacionado con cánceres hepáticos utilizando modelos animales. Otras bacterias, como *Chlamydia psittaci*, *Borrelia burgdorferi* y *Streptococcus bovis*, se han relacionado con cánceres oculares, de piel y colorrectal, respectivamente. Además, una bacteria comensal del intestino humano, *Bacteroides fragilis*, se ha vinculado muy recientemente con el cáncer colorrectal utilizando modelos animales.

© 2010 AEC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Microorganisms and cancer: Scientific evidence and new hypotheses

ABSTRACT

Microorganism involvement in cancer has been known for over a century, and different types of parasites, bacteria and viruses have been associated with oncogenic processes. Among the bacteria, the first recognised was *Helicobacter pylori* which causes gastric cancer and might be related to extra-gastric cancer in humans. *Helicobacter hepaticus* has been associated with liver cancers using animal models. Other bacteria such as, *Chlamydia psittaci*, *Borrelia burgdorferi* and *Streptococcus bovis* have been associated with ocular, skin and colorectal cancers, respectively. Also, a commensal bacterium in the human intestine, *Bacteroides fragilis*, has been linked, very recently, with colorectal cancer using animal models.

© 2010 AEC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: agam@usal.es (A. Gómez-Alonso).

0009-739X/\$ – see front matter © 2010 AEC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

doi:10.1016/j.ciresp.2010.08.006

Introducción

El descubrimiento de que los microorganismos producían enfermedades fue uno de los principales hitos de la Microbiología en el siglo XIX y, ya a finales de ese siglo, los microbiólogos buscaron en estos organismos el origen de muchas enfermedades, incluido el cáncer. Varios autores han llevado a cabo recientemente revisiones sobre los microorganismos que causan cáncer en el hombre¹⁻³, entre los que cabría destacar a Zur Hausen, galardonado en 2008 con el Premio Nobel de Medicina por sus trabajos sobre el papilomavirus humano y su implicación en el cáncer de cérvix^{4,5}. Las evidencias de que diferentes parásitos, virus y bacterias están implicados en cáncer humano son cada vez más numerosas (tabla 1) y los resultados de las últimas investigaciones indican la necesidad de profundizar en la investigación del papel de los microorganismos en el cáncer.

Primero fueron los parásitos

Los primeros microorganismos relacionados con cáncer humano fueron distintos parásitos⁴. Concretamente, *Opisthorchis felinus* con cáncer de hígado⁶, *Bilharzia* (esquistosomiasis) con cáncer de vejiga⁷ y *Spirocerca lupi* con granulomas en perro que pueden derivar a sarcomas⁸. Teniendo en cuenta los resultados de todos estos y otros estudios, la IARC (International Agency for Research on Cancer) concluyó que hay suficientes evidencias para implicar en el cáncer humano a *Schistosoma haematobium* y *Clonorchis viverrini*⁹. Actualmente *Schistosoma haematobium* es una de las principales causas de cáncer de vesícula biliar en Egipto y *Opisthorchis viverrini* y *Clonorchis sinensis* son factores importantes en colangiocarci-

nomas y carcinomas hepáticos en el sureste de Tailandia y en el sur de China⁵.

Después los virus

Los siguientes microorganismos implicados en diferentes tipos de tumores fueron los virus^{4,5} y ya en 1898 M'Faydan y Hobday habían publicado la transmisión de verrugas entre animales¹⁰. En 1911 Rous demostró la transmisión de un tumor sólido, el sarcoma del pollo, con extractos libres de células¹¹. A partir de este momento, otros virus fueron relacionados con la producción de tumores en animales, como el virus del tumor mamario del ratón¹², los poliomavirus¹³, un virus que produce eritroblastosis en hígado de ratón adulto¹⁴ y el virus SV40, que, procedente de hígado de monos, al ser inoculado en hámsteres recién nacidos, provocaba en unos meses tumores invasivos^{15,16}. Aunque en estos tumores no se reproducía el virus, se originaba un antígeno específico¹⁷ igual que sucedía en el caso de los tumores inducidos por el papilomavirus¹⁸.

En el caso del hombre, el primer virus oncogénico fue descrito por Burkitt, un cirujano que trabajó en África y detectó un linfoma en niños de determinadas áreas geográficas¹⁹. Después se descubrió que la causa era un virus²⁰, posteriormente denominado Epstein-Barr, responsable de la mononucleosis infecciosa²¹. El desarrollo de las técnicas inmunológicas de detección de antígenos virales permitió descubrir altos títulos de anticuerpos en los pacientes con linfoma de Burkitt²² y en carcinomas nasofaríngeos²³.

En los años 70 se consiguió la caracterización de un virus aislado de la leucemia mieloide aguda²⁴ y se detectó la presencia del virus del tumor mamario del ratón en leche de mujeres y en cáncer de mama²⁵. Posteriormente se descubrió la implicación del virus de la hepatitis B en el cáncer de hígado²⁶, se

Tabla 1 – Microorganismos que han sido relacionados con diferentes cánceres

Especie microbiana	Localización o tipo de cáncer	Hospedador
Parásitos		
<i>Schistosoma haematobium</i>	Vesícula biliar	Hombre
<i>Opisthorchis viverrini</i>	Hígado	Hombre
<i>Clonorchis sinensis</i>	Hígado	Hombre
Bacterias		
<i>Bacteroides fragilis</i>	Colorrectal	Ratón
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Piel	Hombre
<i>Chlamydia psittaci</i>	Ocular	Hombre
<i>Helicobacter pylori</i>	Aparato digestivo	Hombre
<i>Helicobacter pylori</i>	Ocular	Hombre
<i>Helicobacter pylori</i>	Mama	Hombre
<i>Helicobacter hepaticus</i>	Hepatobiliar	Ratón y posiblemente el hombre
<i>Streptococcus bovis</i>	Intestino	Hombre
Virus		
Epstein-Barr (EBV)	Linfomas de células B, de Burkitt y de Hodgkin, cáncer nasofaríngeo	Hombre
Herpesvirus 8	Sarcoma de Kaposi	Hombre
Papilomavirus	Cérvix y diferentes órganos sexuales	Hombre
Virus de las hepatitis B y C (HBV y HCV)	Hígado	Hombre
Virus HTLV-1	Leucemias	Hombre
Virus SV40	Hígado	Mono, ratón y hámster
Virus del tumor mamario del ratón (MMTV)	Mama	Ratón

identificaron retrovirus en una forma rara de leucemia humana²⁷, se descubrió la implicación del papilomavirus en el cáncer de cérvix en mujeres^{4,5}, la implicación del virus de la hepatitis C en cáncer de hígado²⁸ y la del herpesvirus 8 como el más probable agente del sarcoma de Kaposi²⁹.

Las bacterias después de los virus

Aunque la Bacteriología se desarrolló mucho antes que la Virología, los últimos microorganismos implicados en cáncer humano fueron las bacterias, ya que hasta 1905 no se publicaron los primeros resultados sobre el aislamiento de una bacteria a partir de tumores, a la que el cirujano Doyen³⁰ denominó *Micrococcus neoformans*. Incluso preparó una vacuna que, según decía, curaba el cáncer y que fue aplicada por Wright, que describió la curación con esta vacuna de un caso de cáncer inoperable³¹. El grupo de Wright observó que las características de esta bacteria eran compatibles con las del género *Staphylococcus*³². Obviamente, las técnicas de aquella época para el diagnóstico del cáncer o la identificación de bacterias no eran lo suficientemente seguras para implicar a las bacterias del género *Staphylococcus* en cáncer, aunque sea causante de infecciones en pacientes con cáncer^{33,34} y se haya aislado, junto con otras bacterias, en tumores sólidos, como los de mama³⁵.

El interés que despertó la implicación de varios virus en diferentes cánceres relegó el estudio de la de las bacterias en estas enfermedades a un segundo plano y, hasta finales del siglo xx, ninguna bacteria fue claramente relacionada con la producción de tumores, siendo *Helicobacter pylori* la primera bacteria considerada carcinogénica para el hombre. Su implicación en el cáncer gástrico fue descubierta en el año 1991³⁶⁻³⁹ y en el año 1994 se reconoció a *H. pylori* como agente carcinogénico⁹. Algunos años más tarde se descubrió que la capacidad para producir cáncer gástrico estaba relacionada con la presencia de determinadas regiones en el genoma de la bacteria, denominadas islas de patogenicidad porque en sus extremos tienen secuencias de ADN directas repetidas que las separan del resto del genoma. Estas regiones están ausentes en cepas no patógenas, que pueden adquirirlas por transferencia genética^{40,41}. Las islas de *Helicobacter pylori* pertenecen al sistema de secreción IV^{42,43}, presente en otras bacterias patógenas como *Agrobacterium tumefaciens*, responsable de la formación de tumores en plantas superiores⁴⁴.

A partir del descubrimiento de la implicación de *H. pylori* en cáncer gástrico, varias bacterias se han identificado en diferentes tipos de tumores, aunque todavía no se ha podido demostrar que sean la causa directa de la carcinogénesis, como ocurre en el caso de *Chlamydia psittaci* y diversos tipos de cánceres oculares⁴⁵, *Borrelia burgdorferi* y linfomas de piel⁴⁶, diferentes especies de *Streptococcus* y cáncer de colon y otros cánceres digestivos^{47,48} y, finalmente, entre *Bacteroides fragilis* y el cáncer colorrectal⁴⁹.

Los postulados de Koch en el cáncer

Ya en el siglo xxi la investigación sobre bacterias posiblemente implicados en cáncer ha continuado, aunque básicamente

centrada en *Helicobacter pylori*, sobre la que existen innumerables revisiones recientemente publicadas⁵⁰⁻⁵². Demostrar que un microorganismo es capaz de inducir cáncer es difícil, ya que un agente infeccioso puede disparar los eventos iniciales de la oncogénesis pero estar ausente en el tumor final^{1,5}. Desde que Robert Koch enunció sus famosos postulados, que deben cumplirse para asegurar que un microorganismo es responsable de un proceso infeccioso, solo en el caso de *Helicobacter pylori* se han podido demostrar en el hombre y únicamente en el caso de la gastritis. Y aún así, desde que se observó por primera vez esta bacteria en el estómago humano ligada a úlceras⁵³ hasta que Marshall demostró los postulados de Koch tuvo que pasar más de un siglo⁵⁴. Sin embargo, el reconocimiento de esta bacteria como carcinogénica de clase I llegó tan solo 9 años más tarde⁹. Actualmente, los postulados de Koch solo pueden cumplirse utilizando modelos animales, pero en muchas ocasiones ni siquiera se puede aislar al microorganismo responsable y ha de recurrirse a estudiar los genes microbianos presentes en las muestras de tejidos cancerosos. Por lo tanto, quizá sería conveniente redefinir los postulados de Koch cuando los microorganismos pueden no estar presentes en los tumores en el momento de su detección.

Bacterias implicadas en cáncer del aparato digestivo

Después de dos décadas de investigación, actualmente está plenamente aceptado el papel de *H. pylori* en determinados tipos de cáncer gástrico y la terapia de erradicación de esta bacteria forma parte del tratamiento de estos cánceres⁵⁵⁻⁵⁷. Numerosos estudios se han llevado a cabo para tratar de establecer los mecanismos concretos de la interacción de esta bacteria con el hombre^{58,59}, sus factores de virulencia^{60,61} y el sistema de secreción al que pertenecen sus islas de patogenicidad^{62,63}. Se ha demostrado, que el riesgo de cáncer gástrico producido por *H. pylori* se incrementa en los pacientes infectados con cepas que portan el gen *cagA* localizado en una isla de patogenicidad⁶⁴. No obstante, la amplia distribución de esta isla en la población infectada con *H. pylori* arroja dudas sobre estos hallazgos y parece que hay diferencias entre los tipos de cánceres, siendo más evidente la relación de las cepas que portan la isla con los tumores gástricos con similitud morfológica con el tejido intestinal relacionada con las mutaciones p53 halladas en el cáncer de intestino⁶⁵. Sin embargo, en los cánceres gástricos de tipo difuso están implicadas tanto cepas portadoras de la isla como las que no la contienen⁶⁶. Además determinados alelos del gen *vacA*, implicado fundamentalmente en gastritis, también están relacionados con cáncer gástrico^{67,68}. Aunque se han encontrado variaciones en las secuencias de los genes *cag* de la isla de *H. pylori* en algunas poblaciones, que dificultarían su uso en el diagnóstico de cepas virulentas de esta bacteria^{69,70}, lo que sí parece claro es que la presencia de la isla completa en *H. pylori* está relacionada con síntomas gástricos más intensos⁷¹. Muy recientemente se ha confirmado además que la gastrina es un cofactor esencial en los cánceres gástricos inducidos por *H. pylori* en modelos animales⁷².

Teniendo en cuenta la gravedad y el incremento del cáncer gástrico en la última década en algunas regiones del mundo⁷³,

incluido el producido por *H. pylori*, se ha propuesto la erradicación de esta bacteria en todos los pacientes en los que esta se encuentre, aunque no se haya desarrollado el cáncer, ya que este es un proceso largo; en las primeras etapas se puede manifestar solo como una gastritis atrófica⁷⁴ y se ha demostrado la curación de prácticamente todos los pacientes con linfomas gástricos tipo MALT⁵⁷. Sin embargo, en otros tipos de cáncer gástrico, la erradicación de esta bacteria solo consigue reducir en un tercio su prevalencia⁷⁵. Además la erradicación de esta bacteria no se consigue en todos los casos y los pacientes infectados con cepas que portan las islas de patogenicidad *vacA* y *cagA* presentan mayor fracaso en la erradicación⁶¹. Por ello, se han llevado a cabo numerosos estudios sobre los mecanismos implicados en la respuesta inmune del huésped ante la infección⁷⁶ que faciliten el desarrollo de una vacuna que permita la prevención de los cánceres producidos por *Helicobacter pylori*⁷⁷.

Teniendo en cuenta la relación de *H. pylori* con el cáncer de estómago, se ha planteado la posible implicación de esta bacteria en cáncer de órganos relacionados con el aparato digestivo, ya que se ha encontrado en bilis y vesícula biliar, postulándose la implicación de *H. pylori* en cánceres de estas vísceras en el hombre⁷⁸. No obstante, se precisan más estudios y protocolos más estandarizados para detectar el ADN de la bacteria o bien anticuerpos anti-*Helicobacter* para poder relacionar esta bacteria con cánceres del tracto biliar^{79,80}. En diversos estudios se ha hallado ADN de *H. pylori* en carcinomas hepáticos en el hombre, pero en algunos casos no se estableció exactamente la especie de *Helicobacter* presente en los mismos⁸¹⁻⁸³. Otra especie del género *Helicobacter*, *H. hepaticus*, se ha implicado en cáncer hepatobiliar en modelos animales^{78,79,84,85}. Muy recientemente, mediante técnicas de biología molecular e inmunología se ha descrito la presencia de *H. hepaticus* en vesícula biliar de pacientes con diferentes dolencias digestivas, incluido el cáncer gástrico⁸⁶. En cuanto al cáncer de páncreas, los resultados son contradictorios, aunque se ha hallado una relación positiva entre la presencia de *H. pylori* y este tipo de tumores en individuos no fumadores ni bebedores⁸⁷. En el caso del esófago y de la laringe los resultados indican que no existe relación con esta bacteria^{88,89}.

El incremento del riesgo de padecer un cáncer colorrectal se ha relacionado con la infección con diversos microorganismos⁹⁰, entre los que cabe destacar las bacterias *H. pylori*⁹¹ y *Streptococcus bovis*⁹², en el hombre, y *H. hepaticus*, en ratón⁹³. No obstante, se necesitan más estudios para dilucidar si esta última especie puede causar este tipo de cánceres en humanos⁹⁴. En el caso de *Streptococcus bovis*, su relación con el cáncer colorrectal está bien establecida desde la década de los 70^{47,95}, aunque actualmente algunas cepas de esta especie se han reclasificado en *S. infantarius* y en *S. gallolyticus*⁹⁶. De acuerdo con estudios epidemiológicos, se ha encontrado una relación muy alta en el caso de *S. gallolyticus* con cáncer de colon, mientras que *S. infantarius* presenta mayor correlación con cánceres de otros órganos relacionados con el aparato digestivo, como los de páncreas y de conductos biliares⁹⁶. Otros estudios muy recientes han encontrado que *S. gallolyticus* juega un papel esencial en la progresión de una mucosa colorrectal normal a un adenoma y cáncer colorrectal⁹⁷. Dado que las endocarditis producidas por *Streptococcus* están relacionadas con el cáncer colorrectal^{47,48,95}, se ha propuesto

que la colonoscopia debería ser obligatoria en casos de endocarditis por estos microorganismos⁹⁸.

Además de estas bacterias, recientemente se ha publicado la inducción de tumores por *Bacteroides fragilis*, una bacteria comensal del intestino del hombre, cuyo papel en el cáncer colorrectal podría ser similar al de *H. pylori* en el cáncer gástrico. Se ha evidenciado que las cepas enterotoxigénicas de esta bacteria producen colitis e inducen la formación de tumores en el colon de ratones vía activación de linfocitos helper tipo T que podría estar implicada en la producción de cáncer también en humanos⁴⁹.

Bacterias implicadas en cánceres extragástricos

Aunque la primera bacteria descrita como agente productor de cáncer podría corresponder a *Staphylococcus aureus* y algunos autores han pretendido relacionarla con el cáncer de mama³², nunca se ha demostrado su implicación en el cáncer humano; incluso en un reciente estudio utilizando cultivos celulares se ha comprobado que una proteína extracelular implicada en la adherencia de *S. aureus* puede prevenir las metástasis óseas del cáncer de mama⁹⁹. No obstante, recientemente se han descrito casos de infección por *S. aureus* concomitante con cáncer de mama en los que no está muy clara la relación entre ambas enfermedades¹⁰⁰. Además, también recientemente se ha descrito la presencia de papilomavirus tipo 16 (HPV-16) en el genoma de diferentes bacterias, incluyendo *Staphylococcus aureus*, aisladas a partir de cáncer de cervix¹⁰¹. Los autores sugieren que la presencia de estos virus en el genoma bacteriano podría explicar la progresión de una infección por el HPV-16 a un cáncer cervical utilizando la bacteria como vector¹⁰¹.

Recientes investigaciones han relacionado también a *H. pylori* con cánceres extragástricos, como los de pulmón y mama¹⁰²⁻¹⁰⁴ principalmente vía inducción de la gastrina, que, aparte de una hormona, es un factor de crecimiento tumoral implicado en carcinogénesis y metástasis de estos dos tipos de tumores^{102,103}. Conjuntamente, el estrés y los mastocitos localizados en la barrera hematoencefálica pueden desencadenar una serie de reacciones que facilitan el desarrollo de las metástasis cerebrales de tumores de pulmón y mama¹⁰⁵. *H. pylori* está implicado en este proceso y se ha propuesto que su erradicación podría prevenir este tipo de metástasis cerebrales¹⁰⁶.

La presencia de ADN de *Borrelia burgdorferi* en determinados linfomas ha conducido a sugerir una relación de esta bacteria con linfomas cutáneos no-Hodgkin⁴⁶. Esta bacteria puede pervivir en la piel de los pacientes durante décadas y, ocasionalmente, se pueden desarrollar linfomas de células B y, adicionalmente, otras neoplasias de tipo carcinoma, por lo que se ha propuesto una relación de *B. burgdorferi* con este tipo de tumores¹⁰⁷.

En los últimos años también se han relacionado diferentes bacterias con distintos tipos de cáncer ocular¹⁰⁸ entre las que podemos destacar a *H. pylori* y *Chlamydia*. En cánceres oculares tipo MALT se han encontrado resultados contradictorios con respecto a la implicación de *H. pylori*, ya que algunos estudios sugieren una participación de esta bacteria^{109,110}, mientras otros muestran resultados negativos¹¹¹. Parece que *Chlamydia*

está más probablemente implicada en los cánceres oculares y se ha propuesto su erradicación, junto con la de *H. pylori*, como tratamiento previo a terapias más agresivas^{46,109}. *Chlamydia psittaci* es la única especie identificada por el momento en cánceres oculares tipo MALT^{109,111,112} y algunos autores han encontrado diferencias geográficas¹¹¹, siendo positiva la relación entre esta bacteria y cánceres oculares en Italia⁴⁶ y Austria¹¹² y negativa en Estados Unidos¹¹³. Se piensa que estas discordancias pueden deberse a la metodología utilizada para la detección de las bacterias¹¹⁴. Algunos autores han hallado que otra especie, *Chlamydia trachomatis*, podría ser un factor de riesgo cuando coexiste con los papilomavirus en algunos tipos de carcinomas¹¹⁵. En el caso del cáncer de ovario parece que esta bacteria podría inducir una respuesta inflamatoria que desembocaría en diferentes tipos de cáncer, aunque los autores recomiendan realizar estudios más amplios¹¹⁶.

La metagenómica, nueva vía de detección de bacterias productoras de tumores

Actualmente se admite que las bacterias pueden estar implicadas en diferentes tipos de cánceres; sin embargo, no es fácil detectarlas¹ debido a múltiples causas, que incluyen el hecho de que el cáncer no es el resultado de una infección aguda y por tanto el agente causal puede no recuperarse a partir del tumor⁵. Sin embargo, el ADN vírico o bacteriano puede persistir durante bastante tiempo, bien en el propio tumor, bien en la zona peritumoral, por lo que las técnicas moleculares basadas en la amplificación de ADN bacteriano en los tejidos tumorales son las más comúnmente aplicadas para la detección e identificación de bacterias en tumores. Incluso se han propuesto técnicas de detección basadas en «encontrar» las secuencias correspondientes a ADN exógeno al tumor después de secuenciar fragmentos de ADN del mismo¹¹⁷⁻¹¹⁹. Es necesario asumir que pocas veces se van a poder cumplir los postulados de Koch, ya que, aunque dispusiéramos de cultivos puros, la confirmación del poder carcinogénico de los microorganismos hay que obtenerla en modelos animales, como ha ocurrido recientemente en el caso de la bacteria *Bacteroides fragilis*, cuyo papel carcinogénico en el hombre se presupone a partir de los hallazgos en ratón⁴⁹.

Las técnicas de biología molecular que permiten la identificación de microorganismos en ausencia de aislamiento se conocen como metagenómica y se basan en la amplificación de genes microbianos directamente a partir de una muestra, cuya secuenciación posterior permite la identificación de los microorganismos presentes en la misma^{120,121}. Algunas técnicas metagenómicas tienen la ventaja de permitir analizar los microorganismos presentes en ecosistemas complejos, como son la cavidad oral¹²² o el intestino¹²³. Para analizar este tipo de muestras se pueden aplicar varias técnicas, como el DGGE¹²⁴ o SSCP¹²⁵, basadas, respectivamente, en la diferente movilidad electroforética por cambios en el patrón de desnaturalización o en la conformación secundaria de las cadenas simples de ADN del gen ribosómico 16S, cuya secuencia es la base de la clasificación e identificación de las bacterias. No obstante, para el análisis de poblaciones complejas son especialmente útiles los espacios intergénicos localizados entre los genes ribosómicos 16S y 23S (ITS) en

bacterias y entre los genes 18S y 28S en hongos, que pueden ser separados electroforéticamente en la técnica denominada RISA (ribosomal intergenic spacer analysis). Dado que el tamaño de los ITS en bacterias es muy variable, la técnica RISA permite la separación de los ITS de la mayoría de los grupos bacterianos¹²⁶. La secuenciación posterior de los fragmentos separados permite la identificación de las bacterias, ya que están secuenciados en todas las bacterias patógenas y en los principales comensales del hombre¹²⁶. Mediante esta técnica se han analizado las poblaciones bacterianas intestinales en individuos afectados por cáncer colorrectal¹²⁷ y de laringe¹²⁸.

Las técnicas metagenómicas tienen la ventaja de que permiten la identificación de microorganismos cultivables y no cultivables presentes en el microbioma humano tanto de individuos sanos como de aquellos afectados por procesos tumorales^{128,129}. Durante estos se producen cambios en el microbioma originados por el propio proceso tumoral¹²⁹, por tratamientos antibióticos^{130,131} o por tratamientos radiológicos y quimioterápicos^{130,132}. Por lo tanto, la metagenómica es la herramienta más prometedora en la investigación de los microorganismos presentes en tumores, ya que las nuevas técnicas de secuenciación masiva (*next-generation sequencing*) permiten el análisis de millones de secuencias en tiempos récord y a precios muy competitivos. No cabe duda de que este tipo de técnicas, que permiten la detección de genes microbianos en cualquier muestra, contribuirán sustancialmente al conocimiento de los microorganismos implicados en la producción de tumores.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Dalton-Griffin L, Kellam P. Infectious causes of cancer and their detection. *J Biol.* 2009;8:67.
2. De Martel C, Franceschi S. Infections and cancer: established associations and new hypotheses. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2009;70:183-94.
3. Ziegler JL, Buonaguro FM. Infectious agents and human malignancies. *Frontiers Biosci.* 2009;14:3455-64.
4. Zur Hausen H. Infections causing human cancer. 2006. Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. 2006.
5. Zur Hausen H. The search for infectious causes of human cancers: where and why (Nobel lecture). *Angew Chem Int Ed Engl.* 2009;48:5798-808.
6. Askanazy M. Über infektion des Menschen mit *Distomum felineum (sibiricum)* in Ostpreussen und ihren Zusammenhang mit Leberkrebs. *Cent Bakt Orig.* 1900;28:491-502.
7. Goebel C. Über die bielefelder Bilharziakrankheit vorkommenden Blasentumoren mit besonderer Berücksichtigung des Carcinoms. *Zeitschr Krebsforsch.* 1905;3:369-513.
8. Bailey WS. Parasites and cancer: sarcoma in dogs associated with *Spirocerca lupi*. *Ann N Y Acad Sci.* 1963;108:890-923.
9. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, 7-14 June Schistosomes, liver flukes

- and *Helicobacter pylori*. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum. 1994;61:1-241.
10. M'Faydan J, Hobday F. Note on the experimental transmission of warts in the dog. *J Comp Pathol Ther*. 1898;11:341-4.
 11. Rous P. A sarcoma of the fowl transmissible by agent separable from tumour cells. *J Exp Med*. 1911;13:397-411.
 12. Bittner JJ. Some possible effects of nursing on the mammary gland tumor incidence in mice. *Science*. 1936;84:162.
 13. Stewart SE. Polyoma virus carcinogenesis. *Acta Unio Int Contra Cancrum*. 1963;19:255-62.
 14. Friend C. Cell-free transmission in adult Swiss mice of a disease having the character of a leukemia. *J Exp Med*. 1957;105:307-18.
 15. Eddy BE, Grubbs GE, Young RD. Tumor immunity in hamsters infected with adenovirus type 12 or simian virus 40. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1964;117:575-9.
 16. Girardi AJ, Sweet BH, Slotnick VB, Hilleman MR. Development of tumors in hamsters inoculated in the neonatal period with vacuolating virus, SV-40. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1962;109:649-60.
 17. Black PH, Rowe WP, Turner HC, Huebner RJ. A specific complement-fixing antigen present in SV40 tumor and transformed cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1963;50:1148-56.
 18. Habel K. Specific complement-fixing antigens in polyoma tumors and transformed cells. *Virology*. 1965;25:55-61.
 19. Burkitt D. A children's cancer dependent on climatic factors. *Nature*. 1962;194:232-4.
 20. Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Hair-Sprays. *Lancet*. 1964;1:709-10.
 21. Henle G, Henle W, Diehl V. Relation of Burkitt's tumor-associated herpes-ypse virus to infectious mononucleosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1968;59:94-101.
 22. Henle W, Hummeler K, Henle G. Antibody coating and agglutination of virus particles separated from the EB3 line of Burkitt lymphoma cells. *J Bacteriol*. 1966;92:269-71.
 23. Old LJ, Boyse EA, Oettgen HF, De Harven E, Geering G, Williamson B, et al. Precipitating antibody in human serum to an antigen present in cultured Burkitt's lymphoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1966;56:1699-705.
 24. Gallagher RE, Gallo RC. Type C RNA tumor virus isolated from cultured human acute myelogenous leukemia cells. *Science*. 1975;187:350-3.
 25. Das MR, Vaidya AB, Sirsat SM, Moore DH. Polymerase and RNA studies on milk virions from women of the Parsi community. *J Natl Cancer Inst*. 1972;48:1191-6.
 26. Beasley RP, Hwang LY, Lin CC, Chien CS. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. A prospective study of 22 707 men in Taiwan. *Lancet*. 1981;2:1129-33.
 27. Hinuma Y, Nagata K, Hanaoka M, Nakai M, Matsumoto T, Kinoshita KI, et al. Adult T-cell leukemia: antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1981;78:6476-80.
 28. Simonetti RG, Cottone M, Craxi A, Pagliaro L, Rapicetta M, Chionne P, et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in hepatocellular carcinoma. *Lancet*. 1989;2:1338.
 29. Chang Y, Cesarman E, Pessin MS, Lee F, Culpepper J, Knowles DM, et al. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science*. 1994;266:1865-9.
 30. Doyen TA. On the aetiology and treatment of cancer. *Edinburgh Med J*. 1905;17:373-8.
 31. Spicer S, Wright AE. Case of inoperable cancer of the fauces, the pharinx, the tongue and the cervical glands that has shown marked amelioration after treatment for ten weeks with a bacterial vaccine to neoformans. *J Laryngol*. 1906;21:265-9.
 32. Wainwright M. Highly pleomorphic staphylococci as a cause of cancer. *Med Hypotheses*. 2000;54:91-4.
 33. Felipe WA, Werneck GL, Santoro-Lopes G. Surgical site infection among women discharged with a drain in situ after breast cancer surgery. *World J Surg*. 2007;31:2293-9.
 34. Fukushima T, Kasai Y, Kato K, Fujisawa K, Uchida A. Intradural squamous cell carcinoma in the sacrum. *World J Surg Oncol*. 2009;7:16.
 35. Brook I. Bacteria from solid tumours. *J Med Microbiol*. 1990;32:207-10.
 36. Forman D. *Helicobacter pylori* infection: a novel risk factor in the etiology of gastric cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1991;83:1702-3.
 37. Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Kato I, Pérez Pérez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med*. 1991;325:1132-6.
 38. Parsonnet J, Vandersteen D, Goates J, Sibley RK, Pritikin J, Chang Y. *Helicobacter pylori* infection in intestinal- and diffuse-type gastric adenocarcinomas. *J Natl Cancer Inst*. 1991;83:640-3.
 39. Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo C, Falzon MR, Isaacson PG. *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet*. 1991;338:1175-6.
 40. Gal-Mor O, Finlay BB. Pathogenicity islands: a molecular toolbox for bacterial virulence. *Cell Microbiol*. 2006;8:1707-19.
 41. Juhas M, van der Meer JR, Gaillard M, Harding RM, Hood DW, Crook DW. Genomic islands: tools of bacterial horizontal gene transfer and evolution. *FEMS Microbiol Rev*. 2009;33:376-93.
 42. Oliveira MJ, Costa AC, Costa AM, Henriques L, Suriano G, Atherton JC, et al. *Helicobacter pylori* induces gastric epithelial cell invasion in a c-Met and type IV secretion system-dependent manner. *J Biol Chem*. 2006;281:34888-96.
 43. Pinto-Santini DM, Salama NR. Cag3 is a novel essential component of the *Helicobacter pylori* Cag Type IV secretion system outer membrane subcomplex. *J Bacteriol*. 2009;191:7343-52.
 44. Juhas M, Crook DW, Hood DW. Type IV secretion systems: tools of bacterial horizontal gene transfer and virulence. *Cell Microbiol*. 2008;10:2377-86.
 45. Ferreri AJ, Ponzoni M, Guidoboni M, De Conciliis C, Resti AG, Mazzi B, et al. Regression of ocular adnexal lymphoma after *Chlamydia psittaci*-eradicating antibiotic therapy. *J Clin Oncol*. 2005;23:5067-73.
 46. Schöllkopf C, Melbye M, Munksgaard L, Smedby KE, Rostgaard K, Glimelius B, et al. *Borrelia* infection and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2008;111:5524-9.
 47. Klein RS, Recco RA, Catalano MT, Edberg SC, Casey JI, Steigbigel NH. Association of *Streptococcus bovis* with carcinoma of the colon. *N Engl J Med*. 1977;297:800-2.
 48. Kim SY, Joo SI, Yi J, Kim EC. A Case of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* infective endocarditis with colon cancer: identification by 16S ribosomal DNA sequencing. *Korean J Lab Med*. 2010;30:160-5.
 49. Wu S, Rhee KJ, Albesiano E, Rabizadeh S, Wu X, Yen HR, et al. A human colonic commensal promotes colon tumorigenesis via activation of T helper type 17 T cell responses. *Nat Med*. 2009;15:1016-22.
 50. Costa AC, Figueiredo C, Touati E. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2009;14:15-20.
 51. Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. *J Gastroenterol*. 2009;44:239-48.
 52. Suzuki H, Iwasaki E, Hibi T. *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2009;12:79-87.

53. Bottcher A. Zur Genese des perforierenden Magengeschwurs. *Dopater Medicinische Zeitschrift*. 1874;5:148.
54. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Med J Aust*. 1985;142:436-9.
55. Fuccio L, Zagari RM, Eusebi LH, Laterza L, Cennamo V, Ceroni L, et al. Meta-analysis: can *Helicobacter pylori* eradication treatment reduce the risk for gastric cancer? *Ann Intern Med*. 2009;151:121-8.
56. Wu CY, Kuo KN, Wu MS, Chen YJ, Wang CB, Lin JT. Early *Helicobacter pylori* eradication decreases risk of gastric cancer in patients with peptic ulcer disease. *Gastroenterology*. 2009;137. 1641.e1-1648.e2.
57. Zullo A, Hassan C, Andriani A, Cristofari F, De Francesco V, Ierardi E, et al. Eradication therapy for *Helicobacter pylori* in patients with gastric MALT lymphoma: a pooled data analysis. *Am J Gastroenterol*. 2009;104:1932-7.
58. Beswick EJ, Suárez G, Reyes VE. *H. pylori* and host interactions that influence pathogenesis. *World J Gastroenterol*. 2006;12:5599-605.
59. Amieva MR, El-Omar EM. Host-bacterial interactions in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology*. 2008;134: 306-23.
60. Romano M, Ricci V, Zarrilli R. Mechanisms of disease: *Helicobacter pylori*-related gastric carcinogenesis-implications for chemoprevention. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2006;3:622-32.
61. Sugimoto M, Yamaoka Y. Virulence factor genotypes of *Helicobacter pylori* affect cure rates of eradication therapy. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2009;57:45-56.
62. Bourzac KM, Guillemin K. *Helicobacter pylori*-host cell interactions mediated by type IV secretion. *Cell Microbiol*. 2005;7:911-9.
63. Snaith A, El-Omar EM. *Helicobacter pylori*: host genetics and disease outcomes. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2008;2:577-85.
64. Huang JQ, Zheng GF, Sumanac K, Irvine EJ, Hunt RH. Meta-analysis of the relationship between cagA seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology*. 2003;125:1636-44.
65. Shibata A, Parsonnet J, Longacre TA, García MI, Puligandla B, Davis RE, et al. CagA status of *Helicobacter pylori* infection and p53 gene mutations in gastric adenocarcinoma. *Carcinogenesis*. 2002;23:419-24.
66. Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N, Vogelstein H. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter pylori* infection. *Gut*. 1997;40:297-301.
67. Garza-González E, Bosques-Padilla FJ, Pérez-Pérez GI, Flores-Gutiérrez JP, Tijerina-Menchaca R. Association of gastric cancer. HLA-DQA1, and infection with *Helicobacter pylori* CagA+ and VacA+ in a Mexican population. *J Gastroenterol*. 2004;39:1138-42.
68. Basso D, Zambon CF, Letley DP, Stranges A, Marchet A, Rhead JL, et al. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* cagA and vacA gene polymorphisms. *Gastroenterology*. 2008;135:91-9.
69. Baghaei K, Shokrzadeh L, Jafari F, Dabiri H, Yamaoka Y, Bolfion M, et al. Determination of *Helicobacter pylori* virulence by analysis of the cag pathogenicity island isolated from Iranian patients. *Dig Liver Dis*. 2009;41: 634-8.
70. Ali M, Khan AA, Tiwari SK, Ahmed N, Rao LV, Habibullah CM. Association between cag-pathogenicity island in *Helicobacter pylori* isolates from peptic ulcer, gastric carcinoma, and non-ulcer dyspepsia subjects with histological changes. *World J Gastroenterol*. 2005;11: 6815-22.
71. Talarico S, Gold BD, Fero J, Thompson DT, Guarner J, Czinn S, et al. Pediatric *Helicobacter pylori* isolates display distinct gene coding capacities and virulence gene marker profiles. *J Clin Microbiol*. 2009;47:1680-8.
72. Takaishi S, Tu S, Dubeykovskaya ZA, Whary MT, Muthupalani S, Rickman BH, et al. Gastrin is an essential cofactor for *Helicobacter*-associated gastric corpus carcinogenesis in C57BL/6 mice. *Am J Pathol*. 2009;175: 365-75.
73. Quirós RM, Bui CL. Multidisciplinary approach to esophageal and gastric cancer. *Surg Clin North Am*. 2009;89:79-96.
74. Graham DY, Asaka M. Eradication of gastric cancer and more efficient gastric cancer surveillance in Japan: two peas in a pod. *J Gastroenterol*. 2010;45:1-8.
75. Ito M, Takata S, Tatsugami M, Wada Y, Imagawa S, Matsumoto Y, et al. Clinical prevention of gastric cancer by *Helicobacter pylori* eradication therapy: a systematic review. *J Gastroenterol*. 2009;44:365-71.
76. Suárez G, Reyes VE, Beswick EJ. Immune response to *H. pylori*. *World J Gastroenterol*. 2006;12:5593-8.
77. Del Giudice G, Malfertheiner P, Rappuoli R. Development of vaccines against *Helicobacter pylori*. *Expert Rev Vaccines*. 2009;8:1037-49.
78. Pandey M, Shukla M. *Helicobacter* species are associated with possible increase in risk of hepatobiliary tract cancers. *Surg Oncol*. 2009;18:51-6.
79. De Martel C, Plummer M, Parsonnet J, van Doorn LJ, Franceschi S. *Helicobacter* species in cancers of the gallbladder and extrahepatic biliary tract. *Br J Cancer*. 2009;100:194-9.
80. Xuan SY, Xin YN, Chen AJ, Dong QJ, Qiang X, Li N, et al. Association between the presence of *H. pylori* in the liver and hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2008;14:307-12.
81. Abu Al-Soud W, Stenram U, Ljungh A, Tranberg KG, Nilsson HO, Wadström T. DNA of *Helicobacter* spp. and common gut bacteria in primary liver carcinoma. *Dig Liver Dis*. 2008;40:126-31.
82. Avenaud P, Marais A, Monteiro L, Le Bail B, Bioulac Sage P, Balabaud C, et al. Detection of *Helicobacter* species in the liver of patients with and without primary liver carcinoma. *Cancer*. 2000;89:1431-9.
83. Pellicano R, Mazzaferro V, Grigioni WF, Cutuflia MA, Fagoonee S, Silengo L, et al. *Helicobacter* species sequences in liver samples from patients with and without hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2004;10:598-601.
84. Diwan BA, Sipowicz M, Logsdon D, Gorelick P, Anver MR, Kasprzak KS, et al. Marked liver tumorigenesis by *Helicobacter hepaticus* requires perinatal exposure. *Environ Health Perspect*. 2008;116:1352-6.
85. Canella KA, Diwan BA, Gorelick PL, Donovan PJ, Sipowicz MA, Kasprzak KS, et al. Liver tumorigenesis by *Helicobacter hepaticus*: considerations of mechanism. *In Vivo*. 1996;10:285-92.
86. Hamada T, Yokota K, Ayada K, Hirai K, Kamada T, Haruma K, et al. Detection of *Helicobacter hepaticus* in human bile samples of patients with biliary disease. *Helicobacter*. 2009;14:545-51.
87. Lindkvist B, Johansen D, Borgström A, Manjer J. A prospective study of *Helicobacter pylori* in relation to the risk for pancreatic cancer. *BMC Cancer*. 2008;8:321.
88. Masoud N, Manouchehr K, Najmeh D, Monireh H. Lack of association between *Helicobacter pylori* and laryngeal carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2008;9:81-2.
89. Rezaei J, Tavakoli H, Esfandiari K, Ashegh H, Hasibi M, Ghanei G, et al. Association between *Helicobacter pylori* infection and laryngo-hypopharyngeal carcinoma: a case-control study and review of the literature. *Head Neck*. 2008;30:1624-7.

90. Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Potter JD. Infectious agents and colorectal cancer: a review of *Helicobacter pylori*, *Streptococcus bovis*, JC virus, and human papillomavirus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17:2970-9.
91. Zhao YS, Wang F, Chang D, Han B, You DY. Meta-analysis of different test indicators: *Helicobacter pylori* infection and the risk of colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis*. 2008;23:875-82.
92. Boleij A, Schaeps RM, Tjalsma H. Association between *Streptococcus bovis* and colon cancer. *J Clin Microbiol*. 2009;47:516.
93. Nagamine CM, Sohn JJ, Rickman BH, Rogers AB, Fox JG, Schauer DB. *Helicobacter hepaticus* infection promotes colon tumorigenesis in the BALB/c-Rag2(-/-) Apc(Min/+) mouse. *Infect Immun*. 2008;76:2758-66.
94. Pellicano R, Ménard A, Rizzetto M, Mégraud F. *Helicobacter* species and liver diseases: association or causation? *Lancet Infect Dis*. 2008;8:254-60.
95. Steinberg D, Naggar CZ. *Streptococcus bovis* endocarditis with carcinoma of the colon. *N Engl J Med*. 1977;297:1354-5.
96. Corredoira J, Alonso MP, Coira A, Varela J. Association between *Streptococcus infantarius* (Formerly *S. bovis* II/1) Bacteremia and Noncolonic Cancer. *J Clin Microbiol*. 2008;46:1570.
97. Abdulmir AS, Hafidh RR, Mahdi LK, Al-jeboori T, Abubaker F. Investigation into the controversial association of *Streptococcus gallolyticus* with colorectal cancer and adenoma. *BMC Cancer*. 2009;9:403.
98. Ferrari A, Botrugno I, Bombelli E, Dominioni T, Cavazzi E, Dionigi P. Colonoscopy is mandatory after *Streptococcus bovis* endocarditis: a lesson still not learned. *Case report*. *World J Surg Oncol*. 2008;6:49.
99. Schneider D, Liaw L, Daniel C, Athanasopoulos AN, Herrmann M, Preissner KT, et al. Inhibition of breast cancer cell adhesion and bone metastasis by the extracellular adherence protein of *Staphylococcus aureus*. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;357:282-8.
100. Edey AJ, Bentley PG, Garrett JP, Liebmann RD. Ductal breast carcinoma presenting with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* mastitis. *Breast J*. 2005;11:491-2.
101. Ma Z, Liu L, Zhang F, Yu M, Wang K, Luo J, et al. Human papillomavirus type 16 exists in bacteria isolated from cervical cancer biopsies. *J Int Med Res*. 2009;37:1065-74.
102. Gugger M, Reubi JC. Gastrin-releasing peptide receptors in non-neoplastic and neoplastic human breast. *Am J Pathol*. 1999;155:2067-76.
103. Yonemori K, Sumi M, Fujimoto N, Ito Y, Imai A, Kagami Y, et al. Progastrin-releasing peptide as a factor predicting the incidence of brain metastasis in patients with small cell lung carcinoma with limited disease receiving prophylactic cranial irradiation. *Cancer*. 2005;104:811-6.
104. Prelipcean CC, Mihai C, Gogalniceanu P, Mitrica D, Drug VL, Stanciu C. Extragastric manifestations of *Helicobacter pylori* infection. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. 2007;111:575-83.
105. Theoharides TC. Mast cells and pancreatic cancer. *N Engl J Med*. 2008;358:1860-1.
106. Kountouras J, Zavos C, Diamantidis MD, Deretzi G, Grigoriadis N, Tsapournas G, et al. A concept of *Helicobacter pylori* and stress-secreted mast cells' potential involvement in brain metastases. *J Neuroimmunol*. 2009;209:121-2.
107. Leverkus M, Finner AM, Pokrywka A, Franke I, Gollnick H. Metastatic squamous cell carcinoma of the ankle in long-standing untreated acrodermatitis chronica atrophicans. *Dermatology*. 2008;217:215-8.
108. Verma V, Shen D, Sieving PC, Chan CC. The role of infectious agents in the etiology of ocular adnexal neoplasia. *Surv Ophthalmol*. 2008;53:312-31.
109. Chan CC, Shen D, Mochizuki M, Gonzales JA, Yuen HK, Guex-Crosier Y, et al. Detection of *Helicobacter pylori* and *Chlamydia pneumoniae* genes in primary orbital lymphoma. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 2006;104:62-70.
110. Lee SB, Yang JW, Kim CS. The association between conjunctival MALT lymphoma and *Helicobacter pylori*. *Br J Ophthalmol*. 2008;92:534-6.
111. Chanudet E, Zhou Y, Bacon CM, Wotherspoon AC, Müller-Hermelink HK, Adam P, et al. *Chlamydia psittaci* is variably associated with ocular adnexal MALT lymphoma in different geographical regions. *J Pathol*. 2006;209:344-51.
112. Aigelsreiter A, Leitner E, Deutsch AJ, Kessler HH, Stelzl E, Beham-Schmid C, et al. *Chlamydia psittaci* in MALT lymphomas of ocular adnexals: the Austrian experience. *Leuk Res*. 2008;32:1292-4.
113. Vargas RL, Fallone E, Felgar RE, Friedberg JW, Arbin AA, Andersen AA, et al. Is there an association between ocular adnexal lymphoma and infection with *Chlamydia psittaci*? The University of Rochester experience. *Leuk Res*. 2006;30:547-51.
114. Liu YC, Ohyashiki JH, Ito Y, Iwaya K, Serizawa H, Mukai K, et al. *Chlamydia psittaci* in ocular adnexal lymphoma: Japanese experience. *Leuk Res*. 2006;30:1587-9.
115. Quint KD, de Koning MN, Geraets DT, Quint WG, Pirog EC. Comprehensive analysis of human papillomavirus and *Chlamydia trachomatis* in in-situ and invasive cervical adenocarcinoma. *Gynecol Oncol*. 2009;114:390-4.
116. Carvalho JP, Carvalho FM. Is Chlamydia-infected tubal fimbria the origin of ovarian cancer? *Med Hypotheses*. 2008;71:690-3.
117. Xu Y, Stange-Thomann N, Weber G, Bo R, Dodge S, David RG, et al. Pathogen discovery from human tissue by sequence-based computational subtraction. *Genomics*. 2003;81:329-35. Fe de erratas en: *Genomics*. 2003; 81:648.
118. Feng H, Taylor JL, Benos PV, Newton R, Waddell K, Lucas SB, et al. Human transcriptome subtraction by using short sequence tags to search for tumor viruses in conjunctival carcinoma. *J Virol*. 2007;81:11332-40.
119. Duncan CG, Leary RJ, Lin JC, Cummins J, Di C, Schaefer CF, et al. Identification of microbial DNA in human cancer. *BMC Med Genomics*. 2009;8:2-22.
120. Sleator RD, Shortall C, Hill C. Metagenomics. *Lett Appl Microbiol*. 2008;47:361-6.
121. Ansorge WJ. Next-generation DNA sequencing techniques. *N Biotechnol*. 2009;25:195-203.
122. Avila M, Ojcius DM, Yilmaz O. The oral microbiota: living with a permanent guest. *DNA Cell Biol*. 2009;28:405-11.
123. Ventura M, Turroni F, Canchaya C, Vaughan EE, O'Toole PW, van Sinderen D. Microbial diversity in the human intestine and novel insights from metagenomics. *Front Biosci*. 2009;14:3214-21.
124. Muyzer G, De Waal EC, Uitterlinden AG. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol*. 1993;59:695-700.
125. Schwiager F, Tebbe CC. A new approach to utilize PCR-single-strand-conformation polymorphism for 16S rRNA gene-based microbial community analysis. *Appl Environ Microbiol*. 1998;64:4870-6.
126. Peix A, Rivas R, Velázquez E, Mateos PF, Martínez-Molina E, Muñoz-Herrera A, et al. Application of horizontal staircase electrophoresis in agarose minigels to the random intergenic spacer analysis of clinical samples. *Electrophoresis*. 2005;26:4402-10.
127. Scanlan PD, Shanahan F, Marchesi JR. Culture-independent analysis of desulfovibrios in the human distal colon of healthy, colorectal cancer and polypectomized individuals. *FEMS Microbiol Ecol*. 2009;69:213-21.

128. Lampe JW. The Human Microbiome Project: Getting to the guts of the matter in cancer epidemiology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17:2523-32.
129. Yang L, Lu X, Nossa CW, Francois F, Peek RM, Pei Z. Inflammation and intestinal metaplasia of the distal esophagus are associated with alterations in the microbiome. *Gastroenterology.* 2009;137: 588-97.
130. Van Vliet MJ, Tissing WJ, Dun CA, Meessen NE, Kamps WA, De Bont ES, et al. Chemotherapy treatment in pediatric patients with acute myeloid leukemia receiving antimicrobial prophylaxis leads to a relative increase of colonization with potentially pathogenic bacteria in the gut. *Clin Infect Dis.* 2009;49:262-70.
131. Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS ONE.* 2010;5:e9836.
132. Van Vliet MJ, Harmsen HJ, De Bont ES, Tissing WJ. The role of intestinal microbiota in the development and severity of chemotherapy-induced mucositis. *PLoS Pathog.* 2010;6:e1000879.